ACCADEMIA REALE DELLE SCIENZE DI TORINO

(Anno 1901-902)

Al Chiar.mo Collega
G. Vanzetti
Cordialmente

G. Marro

SULLA SORTE

DELLE

SOSTANZE FINAMENTE GRANULARI

INTRODOTTE IN CIRCOLO

A 606

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

Dott. GIOVANNI MARRO

(CON UNA TAVOLA)

TORINO

CARLO CLAUSEN

Libraio della R. Accademia delle Scienze

1901

ACCADEMIA REALE DELLE SCIENZE DI TORINO

(Anno 1901-902)

SULLA SORTE

DELLE

SOSTANZE FINAMENTE GRANULARI

INTRODOTTE IN CIRCOLO

RICERCHE SPERIMENTALI

DEL

Dott. GIOVANNI MARRO

TORINO

CARLO CLAUSEN

Libraio della R. Accademia delle Scienze

1901

Estr. dagli *Atti della R. Accademia delle Scienze di Torino*, Vol. XXXVII.

Adunanza del 17 Novembre 1901.

Torino — Stabilimento Tipografico Vincenzo Bona.

Sulla sorte delle sostanze finamente granulari introdotte in circolo (*).

Ricerche sperimentali del Dott. GIOVANNI MARRO.

(Con una tavola).

La sorte delle sostanze finamente granulari, introdotte in circolo, fu già da lungo tempo scopo di studio da parte di molti osservatori. Fin dal 1869 datano infatti le belle e fondamentali ricerche in proposito del Ponfick (1) e quelle dell'Hoffmann e del Langerhans (2); successivamente poi comparvero su tale argomento numerosi altri lavori che, nel corso di questa memoria, mi riuscirà opportuno di citare.

Però, nonostante le numerose ed interessanti osservazioni, ricavate sperimentalmente, lo studio degli organi e degli elementi che concorrono a depurare il circolo delle particelle inerti iniettatevi, appariva ancora degno di ulteriore studio; per consiglio del Prof. Bizzozero io intrapresi precisamente alcune ricerche in proposito.

Imponevasi anzitutto una buona scelta delle sostanze da adottarsi quale materiale di iniezione. I sopracitati osservatori si servirono del cinabro, del carmino, dell'inchiostro di China. Poco adatto giudicai il cinabro per le dimensioni piuttosto rilevanti dei suoi granuli, e per il fatto che questi facilmente si raccolgono in blocchi, i quali sarebbero stati, senza dubbio, causa di numerosi trombi ed emboli. Per le stesse ragioni esclusi il carmino, tale quale si ha semplicemente dal commercio, come pare l'abbiano usato gli osservatori che di esso si valsero per queste ricerche. Il Kupffer otteneva la sospensione dell'inchiostro di China, soffregando sopra una superficie piana i soliti bastoncini del commercio, dopo averli lasciati opportunamente rammollire nell'acqua; per altro io ho osservato che con questo

---

(*) Di questo lavoro venne presentata memoria preliminare alla R. Accademia di Medicina di Torino nella seduta del 6 luglio 1900.

(1) Ponfick, " Virchow's Arch. „, 1869.

(2) Hoffmann u. Langerhans, " Virchow's Arch. „, 1869.

metodo si ottengono, insieme a minuti granuli, anche degli ammassi di discreta grossezza.

Del carmino e dell'inchiostro di China mi valsi pur io. Ritenendo però molto importante l'uso di sostanze finamente granulari, i cui granuli fossero bene isolati, mi servii di quell'inchiostro di China che mette in commercio, liquido, la casa Bourgeois Aîné di Parigi. Esso corrispose ai miei desiderî, poichè i granuli, bene isolati, sono di estrema piccolezza: appena percettibili con ingrandimento di 600 diametri. La sospensione da iniettare la ottenevo diluendo 1-2 parti di tale inchiostro su 100 cm^3 di soluzione di cloruro di sodio al 0,60 %, previamente sterilizzata. Del carmino poi il seguente processo mi fornì una omogenea sospensione di fini granuli: preparava dapprima una soluzione ammoniacale di buon carmino Naccarat (gr. 2 di carmino, cm^3 5 di ammoniaca, cm^3 100 di acqua) ed una acquosa di acido acetico al 10 %; versando poi lentamente la seconda nella prima, agitando di continuo con una bacchetta di vetro, il carmino a poco a poco precipitava in finissimi granuli; filtrata la sospensione ottenuta, risospendeva infine il carmino che rimaneva sul filtro in soluzione pure sterilizzata di cloruro di sodio al 0,60 %, procurando che il materiale granulare fosse nella proporzione di 1 gr. su 100 cm^3 di veicolo. Agitando fortemente questa sospensione, i fini granuli presentavansi bene isolati e così avevo del carmino pronto per l'iniezione: questi granuli però sono sempre notevolmente più grossi di quelli di carbone dell'inchiostro di China.

Cani, conigli, cavie, polli furono i miei animali da esperimento; mi valsi però a preferenza dei conigli, che offrono una disposizione favorevole per queste esperienze, dacchè le vene marginali delle loro orecchie si prestano benissimo all'introduzione nel sangue delle sospensioni granulari. Per iniettare le cavie ed i polli, isolavo ed aprivo la vena giugulare o femorale rispettivamente; nei cani l'iniezione veniva fatta in una qualsiasi vena sotto-cutanea delle gambe.

Il peso dei conigli da me adoperati variava fra grammi 1000 e 2000, ed iniettavo in essi, generalmente in una sol volta, 15, 20, 30 cm^3 di una delle due accennate sospensioni granulari. Ho avuto cura che il liquido fosse di una temperatura oscillante fra 36-38°, ed ho eseguito l'operazione mediante

un apparecchio a mercurio a pressione costante; l'operazione durava circa 10-15 minuti.

Se il materiale iniettato era di carmino, i conigli dopo l'operazione non davano segni di sofferenza, ad eccezione di un po' di affanno nel respiro; se invece erasi iniettato inchiostro di China, molte volte si mostravano, dopo un certo tempo, abbattuti, anzi parecchi soccombettero dopo un'ora, un'ora e mezza; alcuni invece non risentivano apparente danno sensibile, nè immediatamente dopo l'iniezione, nè in seguito. Più delicate dei conigli riscontrai le cavie, meno i cani; i polli, in cui iniettavo una quantità di sospensione granulare, proporzionatamente al loro peso, superiore a quella iniettata negli altri animali, sopportavano sempre benissimo l'operazione.

È noto che le fine particelle inerti, circolanti nel sangue, vengono agglùtinate in blocchi di differente grossezza, per opera dei liquidi organici. Il Salvioli (1) poi ha dimostrato, *in vitro*, che il siero del sangue di cane ha grande potere agglutinante sui granuli di carmino e di inchiostro, mentrechè quello di coniglio ne è quasi privo.

Dall'esame del sangue di alcuni animali, tolto da una qualsiasi vena periferica, mi risulta che il materiale iniettato non compare così presto tutto in circolo, come potrebbe parer logico il pensare, conoscendo le leggi fisiologiche della contrazione cardiaca e della velocità della corrente sanguigna; la massima parte solo si riscontra dopo 10-15 minuti dalla fine dell'iniezione, in parte libero, in parte inglobato da leucociti.

Mi sono poi convinto che questo materiale granulare, portato che sia in circolo, rapidamente ne viene eliminato: in un lasso di tempo variante fra qualche minuto a mezz'ora o un'ora circa. E quest'osservazione trova un riscontro nella rapida scomparsa dal sangue dei bacteri iniettati, come p. e., lo dimostrano le ricerche del Fodor (2) e del Wyssokovitsch (3). Werigo (4), che pure ha constatato rapida diminuzione dei granuli di carmino, dà di questi fatti la spiegazione dicendo, che

---

(1) G. Salvioli, " Giorn. della R. Accad. di Torino „, 1899.
(2) Fodor, " Deuts. Medic. Wochenschrift „, 1887.
(3) Wyssokovitsch, " Zeitschrift für Igiene „, Band I.
4) Werigo, " Annales de l'Institut Pasteur „, 1892.

l'iniezione dei bacteri o di carmino induce una diminuzione immediata e molto considerevole dei globuli bianchi, i quali scompaiono dal sangue, perchè inglobano i bacteri ed i granuli e li trasportano negli organi. Pronta assunzione dei granuli di cinabro, da parte dei leucociti circolanti, già era stata notata dal Ponfick, che aveva pure ammesso la consecutiva cessione dei granuli da parte dei leucociti agli elementi degli organi. Da alcuni conteggi di globuli bianchi, fatti (nei cani) coll'apparecchio del Thoma-Zeiss, mi risulta che la diminuzione dei leucociti, in circolo, non è immediata, verificandosi essa solo 10-20 minuti dopo l'iniezione, e non è così notevole come rilevasi dai dati di Werigo. Senza potermene rendere ragione, io ho notato che, all'iniezione dell'inchiostro di China, segue poi una notevolissima leucocitosi, che si protrae per più giorni.

Ho infine osservato che traccie dei granuli iniettati si possono ancora trovare in circolo 24 ore dopo l'iniezione e più tardi ancora. Di questo fatto, da altri constatato, come pure della non immediata comparsa in circolo della maggior parte dei granuli iniettati, darò io, più tardi, una interpretazione.

Gli animali venivano sacrificati a vario intervallo di tempo dall'iniezione; alcuni dopo mezz'ora, dopo 1, 12, 24, 48 ore; altri dopo 20-30 giorni. La morte veniva loro procurata mediante inalazione di cloroformio, cui aggiungevo un po' di etere amilnitroso, per la cui azione vaso-dilatatrice si poteva osservare, in seguito nelle sezioni molto bene, il decorso dei capillari dilatati pieni di sangue.

Io facevo un immediato esame degli organi colla dilacerazione a fresco in cloruro di sodio al 0,60 per 100 di acqua. Pezzi dei varî organi fissavo poi in differenti liquidi e successivamente includevo in paraffina. Ritenendo molto opportuna la conservazione del sangue, quali liquidi fissatori io usai a preferenza quello del Zenker, per gli organi di animali in cui era stato iniettato inchiostro, e la soluzione acquosa concentrata di acido picrico, quando l'iniezione era stata fatta con carmino. Il liquido del Zenker, che non ha alcun'azione sopra i granuli di carbone, altera e fa scomparire quelli di carmino, che vengono invece assai bene conservati dall'acido picrico.

Le colorazioni che io ho adottate per le sezioni furono: l'ematossilina coll'eosina, il picrocarmino, ed il metodo dei tre

colori di Ramon, o l'ematossilina semplice a seconda che si trattava di granuli neri o rossi. In ogni caso però, preparati molto dimostrativi, mi fornì una tenue colorazione avuta dal verde di metile Grübler, in semplice soluzione acquosa all'1 %.

Esporrò ora il risultato dell'esame dei varî organi appartenenti agli animali da me iniettati.

Fegato. — Estratto il fegato dalla cavità addominale, questo appariva in tutti i casi lievemente tumido, con una tinta uniforme: rosso-intensa o grigio-nerastra, a seconda della sostanza iniettata; la superficie dei tagli presentava eguale ed uniforme colorito.

Le indagini microscopiche mi condussero anzitutto alla conclusione, cui erano già concordemente giunti gli altri osservatori: il fegato è l'organo che più lavora a depurare il circolo delle sostanze granulari introdottevi. Ho poi osservato che tale attività depuratrice epatica si esplica in modo rapidissimo, tantochè la quantità di sostanza granulare, che nel fegato si osserva mezz'ora dopo l'iniezione, è pressochè eguale a quella che si riscontra 1, 12, 24 ore dopo. Però, come dice anche Rütimeyer (1), nei primissimi tempi, i granuli sono prevalentemente raccolti alla periferia dell'acino epatico; in seguito, invece, mostransi uniformemente distribuiti nelle sue diverse zone.

Ponfick aveva ammesso essere elementi estravascolari quelli inglobanti il cinabro iniettato nelle vene, ed i granuli verrebbero loro ceduti dai leucociti circolanti. Secondo il Siebel (2), i granuli vengono assunti dai leucociti, che migrano poi nel connettivo intralobulare ed, in parte, vi permangono come elementi fissi ed, in parte, vengono trasportati ai gangli linfatici. Werigo invece concluse che l'attività epatica depuratrice del circolo spetta all'endotelio dei capillari, i cui elementi hanno la proprietà di inglobare, sia direttamente i granuli circolanti, sia i leucociti che di tali granuli subito si impadroniscono e che in gran numero poi s'ammassano nei capillari e li trombizzano. Più recentemente Kupffer (3), nel lavoro in cui dimostrò essere elementi endoteliali dei capillari portali le cellule note sotto il

---

(1) Rütimeyer, " Arch. f. exp. Pathologie u. Pharmakologie „, 1881.
(2) Siebel, " Wirchow's Arch. „, 1886.
(3) Kupffer, " Arch. f. Mikrosc. Anatomie „, 1899.

nome di cellule stellate del Kupffer, pur venne alla conclusione che sia precisamente tale endotelio capillare quello che trattiene, nel fegato, i granuli stati iniettati nelle vene.

Il Salvioli (loc. cit.), ha poi dimostrato, con opportune circolazioni artificiali, che, non solo indipendentemente dai leucociti circolanti, ma anche senza l'endotelio capillare, il fegato può trattenere i granuli che vi si facciano circolare. In questi casi, secondo tale autore, i granuli verrebbero trattenuti perchè agglutinandosi nell'interno dell'organo ne trombizzano i capillari; nell'animale vivo tali fenomeni di agglutinazione precederebbero e faciliterebbero l'assunzione dei granuli da parte dei leucociti e degli endotelî vasali.

Dall'esame dei miei preparati, una gran parte dei granuli rilevasi per l'appunto contenuta negli elementi endoteliali dei capillari epatici. In alcuni punti dei preparati i granuli, che entrati nel protoplasma di un elemento si fondono insieme in blocchi, mascherano completamente il nucleo cellulare e talvolta tutto il protoplasma dell'elemento stesso; ciò dimostrerebbe che i fenomeni di agglutinazione avvengono non solo nel lume vasale, ma anche negli stessi elementi endoteliali, i quali trasformano in ammassi più grossi i blocchi già risultanti dall'agglutinamento di più granuli. Ed appunto per questo agglutinarsi dei granuli in blocchi ed ammassi, riesce difficile il determinare, se sempre essi siano contenuti solo nell'endotelio capillare o se anche ne vengono, in parte, raccolti da elementi estravascolari. Discreta abbondanza del materiale iniettato si riscontra ancora nel fegato dopo 20-30 giorni dall'iniezione.

Milza. — Macroscopicamente la milza non presentava sempre un medesimo aspetto. Il suo volume alcune volte era affatto normale, talvolta invece appariva essa molto ingrossata, colla capsula tesa. Non sempre potei stabilire proporzionale all'aumento di volume, la quantità di sostanza granulare che vi si riscontrava microscopicamente. La polpa appariva di una tinta uniforme, anche qui come nel fegato rossa o nerastra. I corpuscoli malpighiani, biancastri, erano generalmente aumentati in volume e più nettamente spiccavano sulla superficie di sezione.

Discordi appaiono i dati ed i pareri dei varî autori, riguardo alla facoltà depuratrice della milza per le particelle inerti circolanti nel sangue. Werigo, che non lasciava vivere gli animali

più di tre ore dopo l'iniezione, riscontrò nella milza assai pochi granuli, inglobati, dice egli, dalle grandi e piccole cellule della polpa (1); così pure Kupffer, in animali uccisi dopo 24 ore, trovò scarsi granuli, specialmente raccolti alla periferia dei corpuscoli malpighiani; Rütimeyer invece ne osservò in questo organo una quantità pari a quella riscontrata nel fegato; questo autore uccideva gli animali a vario intervallo di tempo dalla iniezione; alcuni dopo poche ore, altri dopo qualche giorno; e coi dati di Rütimeyer s'accordano generalmente quelli degli osservatori che, primi, si occuparono dell'argomento.

Questa notevole discordanza però è più apparente che reale. Dai dati complessivi dei miei esperimenti ho potuto rilevare che l'attività depuratrice splenica si manifesta più gradatamente della epatica; e così se il materiale iniettato è scarso, esso viene per la maggior parte prontamente arrestato dal fegato e poco se ne raccoglie nella milza; se invece esso è abbondante, permanendone una discreta quantità più a lungo in circolo, rapidamente va pur nella milza aumentando il contenuto granulare, e dopo qualche ora può essa presentarsi altrettanto zeppa di granuli che il fegato. Pur molto ricca di granuli presentasi la milza, anche dopo un'ora, se cospicua fu la dose del materiale iniettato.

Variando la quantità della sostanza di iniezione, varia poi non solo la quantità di granuli che nella milza si raccoglie, ma pure alquanto la loro distribuzione nel suo parenchima. Se piuttosto scarsa infatti è la sostanza granulare iniettata, si rileva che essa ha tendenza a disporsi in linee curve specialmente alla parte periferica dei corpuscoli di Malpighi, che ne possono rimanere anche completamente circondati come da un anello, restandone però essi stessi affatto privi. Se invece una grande quantità delle preparate sospensioni poi immettiamo in circolo, osserviamo che, nei primissimi tempi dopo l'iniezione, la milza ci offre un quadro eguale a quello sopra descritto, consecutivamente però, si nota che i granuli invadono diffusamente ed in grande quantità, raccolti talvolta insieme in grandi blocchi più o meno regolarmente rotondeggianti, tutta la polpa splenica,

---

(1) Quest'ultimo reperto concorda con quello già ottenuto da Ponfick, Siebel, ecc.

rimanendone sempre del tutto privi i corpuscoli di Malpighi. Solo dopo venti giorni, una discreta quantità presentasi pure raccolta in essi.

A parità di condizioni la milza di coniglio mi risulta sia quella che più assume i granuli iniettati. Nella milza di polli, lungamente digiunanti, riscontrai minor quantità di granuli di quella osservata nel pollo ben nutrito.

Sia nellé sezioni montate in balsamo, sia nei preparati per dilacerazione, parrebbe che parte dei granuli si trovi affatto libera nel parenchima splenico (Werigo). Dalle dilacerazioni poi a fresco, molto meglio che dalle sezioni, io determinai che buona parte dei granuli è inglobata dai leucociti mono e polinucleari ed in più grandi fagociti, di varia e talvolta strana forma, contenenti spesso, insieme ai granuli iniettati, pigmento ematico, goccioline fortemente risplendenti e presentanti pure spesso vacuoli nel loro protoplasma. Non mi è riuscito di dimostrare la presenza di granuli nelle caratteristiche cellule falciformi endoteliali della milza.

Midollo osseo. — Nel midollo osseo l'indagine microscopica mi permise di mettere in evidenza dei fatti finora mai riscontrati, e di venire a conclusioni cui non erano giunti gli altri osservatori. E fu precisamente nel midollo osseo del coniglio, animale stato generalmente adottato, per le esperienze in proposito, dagli autori che mi precedettero nello studio dell'argomento, che ebbi la ventura di fare osservazioni nuove ed interessanti.

Gli studi del Ponfick tendono a precisare che i granuli vengono, nel midollo, inglobati da elementi estravascolari, contenuti nel tessuto linfoide. L'Hoyer (1), iniettando, per puntura, del cinabro nel tessuto midollare, dice di averne poi riscontrato i granuli nelle cellule midollari e non nei vasi, e su ciò si fonda per negare la esistenza di membrana nelle vene del midollo. L'Arnold (2), iniettando pur esso direttamente nel midollo delle diafisi le sospensioni granulari, asserisce che i granuli iniettati vengono racchiusi da piccoli e grandi elementi con nucleo rotondo o polimorfo ed anche dai megacariociti. Il Siebel dice che,

---

(1) Hoyer, " Centr. f. med. Wissensch. „, 1869.
(2) Arnold, " Virchow's Arch. „, 1895.

delle cellule inglobanti i granuli iniettati, molte si presentano già dopo 2 ore contenute negli spazi estravascolari; dopo qualche giorno esse, quasi tutte, hanno abbandonato i vasi ed appaiono come elementi della polpa midollare. Kupffer poi, nel suo lavoro recentissimo, avendo pure investigato il midollo osseo dopo l'iniezione di inchiostro di China, confessa di non essere riuscito a determinare la natura degli elementi, che vi trattengono i granuli di carbone. Nessun altro lavoro, per quanto mi consta, venne in proposito a conclusioni nuove o più precise.

Dei conigli io esaminai quasi esclusivamente il midollo osseo della diafisi femorale. Macroscopicamente il cilindro midollare presentava sempre uniforme variazione di colorito, con tinta però meno accentuata di quella rilevata nel fegato e nella milza corrispondenti.

I più evidenti risultati che, per primo, mi riuscì di assodare, li ho ottenuti sul midollo osseo di conigli, in cui avevo iniettato inchiostro di China; e questo io attribuisco esclusivamente alla maggiore piccolezza dei granuli di carbone di fronte a quelli di carmino. Del midollo osseo di questi conigli, fissato in Zenker ed incluso in paraffina, io feci sezioni parallele e perpendicolari ai suoi grossi vasi, più o meno centrali, ottenendone di quelle molto sottili, di 3-4 micromillimetri.

Dall'esame dei preparati risulta costante nel midollo osseo la presenza dei granuli iniettati, omogeneamente dispersi su tutto l'ambito delle sezioni longitudinali e trasversali, dimostrando questa osservazione che la zona periferica media e centrale in cui viene dagli istologi diviso il midollo delle diafisi, non differiscono sensibilmente l'una dall'altra, rispetto all'attitudine di trattenere le particelle inerti circolanti nel sangue.

La quantità però dei granuli contenuta nel midollo osseo è sempre inferiore alla quantità presentata dal fegato e dalla milza; inoltre, anche a piccolo ingrandimento, spicca il fatto che i granuli di carbone qui non si agglutinano insieme, sì da formare dei blocchi più o meno grossi, come si riscontra nei sopradetti organi.

Parte di questi granuli sono evidentemente contenuti in elementi estravascolari; di tali elementi mi occuperò più avanti. In gran numero però i granuli si vedono, con obbiettivi di media potenza, decorrere in serie longitudinali, qua e là interrotte,

lungo la parete dei fini capillari e degli ampi capillari venosi; talvolta poi, quando questi risultano tagliati trasversalmente, la loro parete appare più spiccata per l'esistenza di un cerchietto di granuli neri. Nei punti dei preparati dove sono evidenti gli appiattiti nuclei endoteliali dei capillari, si vedono, con forti obbiettivi, i fini granuli raccolti specialmente in mucchietti ai loro poli, evidentemente contenuti nel sottil velo protoplasmatico degli elementi.

Tale osservazione, dimostrando attività speciale dell'endotelio capillare del midollo di trattenere i granuli inerti introdotti in circolo, stabilisce analogia di funzione fra questo endotelio e quello dei capillari epatici. Però, gli elementi endoteliali del midollo non presentano una così grande quantità di granuli, come generalmente si osserva in quelli del fegato. Inoltre a differenza ancora di quanto si osserva in questi, i granuli, penetrati in un elemento endoteliale, non si fondono insieme in blocchi, nè mascherano mai completamente il nucleo, che appare anzi per lo più molto evidente; non avviene cioè, in tale endotelio, agglutinamento dei granuli penetrativi e di ciò non credo si possa dare altra interpretazione che ammettendo, o una differente composizione chimica, o una differente attività biologica, fra l'endotelio capillare epatico e quello midollare.

Il corpo cellulare degli elementi endoteliali, contenenti granuli, appare di regola alquanto aumentato in volume, con leggera sporgenza sul lume vasale; esso conserva però la forma normale; si riscontrano però anche qua e là cellule endoteliali, affatto gremite di granuli, globose, molto ingrossate. Mai mi fu dato di osservare figure di rapporti speciali fra questo endotelio ed i leucociti circolanti, come afferma di aver riscontrato Werigo nei capillari epatici; onde io credo che, nel midollo, l'endotelio inglobi direttamente i granuli, liberamente circolanti nel sangue, favorito in ciò dal grande rallentamento della circolazione, che vi deve esistere per la sproporzione del diametro e del numero delle vene col diametro e col numero dei capillari (Bizzozero) (1).

Pressochè immediata manifestasi l'assunzione del materiale granulare, sia esso di carmino o di inchiostro, da parte dell'en-

(1) Bizzozero, Napoli, 1869.

dotelio midollare, rilevandosi già mezz'ora sola dopo l'iniezione numerosi elementi endoteliali della rete venosa contenenti granuli. D'altra parte, non solo dopo 24, 48 ore, ma anche dopo 20, 30 giorni, si riscontrano elementi endoteliali dei capillari contenenti ancora granuli di carbone. Dai dati complessivi delle mie ricerche risulterebbe che la quantità dei granuli contenuta negli elementi endoteliali del midollo va crescendo da mezz'ora, a un'ora, un'ora e mezzo: ed in questi primi tempi il decorso dei capillari spicca nettissimo per la esistenza dei granuli scaglionati lungo la loro parete; i quali granuli, essendo contenuti negli elementi endoteliali, servono bene a mettere in rilievo la presenza ed il grande numero dei medesimi (Fig. 1); dopo 24, 48 ore comincerebbe lievemente a diminuire il contenuto granulare dell'endotelio; certo è che dopo 20, 30 giorni la quantità dei granuli contenutavi è molto più scarsa.

Un altro fatto, che non trova riscontro nelle osservazioni fatte da precedenti autori in altri organi, mi fu dato di rilevare nel midollo di conigli uccisi poco dopo l'iniezione. In questi casi si vede talvolta che anche alcuni elementi endoteliali dei più grossi tronchi venosi ed eziandio dell'ampia vena centrale, contengono nel loro protoplasma granuli di carbone. E che qui si tratti di vera penetrazione di granuli nell'interno degli endotelî e non di semplici fenomeni di adesione ai medesimi, dimostrano parecchi fatti: anzitutto i granuli cadono veramente a fuoco quando lo sono pure perfettamente il protoplasma ed il nucleo degli elementi; il corpo cellulare appare pure alquanto ingrossato e la distribuzione dei granuli è uguale a quella sopra descritta per l'endotelio capillare, si riscontrano cioè aggruppati in maggior quantità intorno ai poli dei nuclei; inoltre, mentre si riscontrano di questi elementi con molti granuli, ne intercedono altri che ne sono affatto privi.

Notevoli variazioni si riscontrano poi, rispetto all'attitudine di trattenere le particelle iniettate, fra il midollo del coniglio e quello degli altri animali. Anzitutto la quantità di granuli contenuta nel midollo di quello, appare superiore alla quantità riscontrata nel midollo di questi. Non è facile fornire spiegazioni di tale differenza; certo è che le cause le quali concorrono a produrla appaiono complesse. In certi casi, questa relativa scarsità di granuli, sembra stia in rapporto colla maggiore ric-

chezza di grasso del midollo, per cui scarseggiano gli elementi attivi del parenchima e meno abbondante è l'irrorazione sanguigna, come si riscontra infatti nel midollo delle diafisi del cane e del pollo. Nel cane esaminai, in dilacerazioni a fresco, anche il midollo costale, eminentemente funzionante; vi riscontrai una quantità di granuli, che mi parve bensì maggiore di quella contenuta sul midollo delle corrispondenti diafisi, ma pure inferiore a quella contenuta nel midollo del coniglio. Nel coniglio stesso poi, una minor quantità di granuli è contenuta nel midollo della parte inferiore della diafisi femorale e in quello di tutta la diafisi tibiale, in cui, generalmente, è contenuta una maggior quantità di grasso. Nel midollo della diafisi tibiale del pollo rarissimi sono i granuli iniettati. All'adiposi però del midollo non si può dare un valore assoluto, poichè in polli lungamente digiunanti ed iniettati dopo il digiuno, il midollo osseo, pur essendosi riassorbito una grande quantità di grasso, presentò sempre scarso il contenuto granulare. La presenza di una grande quantità di grasso non può poi anche invocarsi per spiegare la scarsità di granuli riscontrata nel midollo della cavia; nella quale, infatti, il midollo osseo è meno ricco di grasso di quello del coniglio e più abbondano gli elementi attivi, e pur tuttavia sono scarsi i granuli.

Nel cane, nella cavia, nel pollo, non mi riuscì di accertare la presenza di granuli nell'endotelio vasale del midollo. Non ho argomenti a spiegazione di questa differenza di comportamento, rispetto ai granuli iniettati, fra il midollo del coniglio e quello degli altri animali; noto che la rete vasale del midollo, nei miei preparati, risulta più evidente nel coniglio che negli altri animali.

Espongo in ultimo alcune osservazioni, non prive di interesse, riguardanti quella parte dei granuli iniettati che nel midollo osseo pur viene trattenuta negli spazi estravascolari. Noto anzitutto che, scarsissima nei primi tempi dopo l'iniezione, essa va, in seguito, alquanto aumentando; cosicchè venti giorni dopo negli elementi estravascolari è contenuta una maggiore quantità di granuli di quella che ancor ci presenta il rivestimento endoteliale della rete vascolare. Qualora non sia trascorso molto tempo dall'iniezione, questi elementi ci si presentano come cellule rotondeggianti, più o meno grandi, a protoplasma granuloso,

con nucleo evidente; si tratta qui o di leucociti che direttamente assumono dal sangue i granuli iniettati e che poi migrano nel parenchima, o di elementi midollari ai quali pervengono, nel tessuto, i granuli iniettati nel sangue.

Se esaminiamo invece il midollo di animali sacrificati dopo un più lungo intervallo di tempo dall'iniezione, riscontriamo che, fra i più numerosi elementi contenenti granuli, alcuni ricordano ancora i precedenti, dai quali generalmente differiscono per il maggior numero dei granuli in loro racchiusi e per il fatto che questi granuli, essendo anche generalmente più grossi, mascherano talvolta completamente il corpo cellulare ed il nucleo degli elementi. Il maggior numero però di questi elementi estravascolari ci appare di differente e fra loro anche svariata configurazione: sono infatti cellule ora più o meno regolarmente ovali e più o meno allungate, ora fusiformi, ora stellate con nucleo centrale da cui si dipartono tre od anche quattro prolungamenti gremiti di granuli. Tutti questi ultimi elementi descritti non credo che altrimenti si possano interpretare che come elementi connettivi adulti (Fig. 2).

Nei primi tempi dall'iniezione, il materiale granulare trovasi uniformemente sparso nei differenti campi microscopici delle sezioni, dopo 20 giorni invece, a seconda dei varî punti di una medesima sezione, si riscontra una variabile quantità di granuli.

La diminuzione della quantità di sostanza granulare nelle cellule endoteliali, che, a parecchi giorni di distanza dall'iniezione, si riscontra compagna all'aumento di quella osservata negli elementi estravascolari, potrebbe fare supporre che avvenga una cessione di granuli da parte degli endotelî a questi elementi estravascolari. Non ho però potuto raccogliere alcun fatto che mi autorizzi a pronunciarmi sul modo con cui avverrebbe tale cessione.

Mai io vidi granuli negli elementi giganti col nucleo centrale in gemmazione. Questo reperto, discordante da quello di Arnold, trova conferma nei dati raccolti da Ponfick, Hoffmann e Langerhans, Reclinghausen. Non credo però che questo fatto possa invocarsi per negar loro, in via assoluta, un'attitudine fagocitaria, come tenderebbe ad ammettere Heidenhain (1), esistendo

---

(1) Heidenhain, " Arch. für Mikr. Anat. „, 1894.

molte osservazioni in contrario di Metschnikoff, van der Stricht, Denys, Loewit, Freiberg, H. F. Müller, Eliasberg e Foà. Quest'ultimo Autore ammette che l'unica funzione anatomicamente dimostrabile in queste cellule gigantesche sia la distruzione dei leucociti fuori d'uso; in molte circostanze egli è infatti riuscito a provocare abbondante fagocitosi di leucociti in tali elementi. Anche io ho potuto più volte osservare, nei miei preparati, un numero variabile di globuli bianchi inglobati dai megacariociti. Nei miei casi, questo fatto può, almeno in parte, ritenersi come conseguenza della leucocitosi susseguente alla iniezione.

Sempre a proposito poi di tali elementi noto che nei primi tempi dopo l'iniezione ne ho riscontrati alcuni nella rete venosa; tale fatto non può recare meraviglia, spiegandosi facilmente col perturbamento apportato al circolo midollare dal materiale iniettato.

Sono note infatti le ricerche del Lubarsch (1), dell'Aschoff (2) e del Foà (3) che, in varie contingenze morbose, alteranti il circolo midollare, hanno riscontrato la penetrazione in circolo di questi megacariociti.

Polmone. — Già è stato dimostrato che il polmone deve anche considerarsi come organo in cui avviene la distruzione di elementi che, vi vengono portati dalla corrente sanguigna. L'Aschoff ed il Foà infatti, nei lavori sopra citati, hanno osservato che i megacariociti penetrati in circolo vanno ad embolizzare i capillari polmonari; secondo il Foà poi, che ammette il prodursi di tali fenomeni in minime proporzioni anche normalmente, tali elementi subirebbero nel polmone un processo di frammentazione e vi si distruggerebbero. Ribbert (4) iniettando nelle vene del coniglio un'emulsione di spore di *aspergillus flavescens*, ha visto nei capillari e negli alveoli polmonari i leucociti circondare queste spore, che più tardi venivano assorbite da cellule giganti. Werigo riferisce di aver trovato in conigli uccisi poco dopo l'iniezione di colture bacteriche in gran numero dei bacteri iniettati nei capillari polmonari. Più direttamente atti-

---

(1) Lubarsch, " Fortschr. d. Med. „, 1893.
(2) Aschoff, " Virchow's Arch. „, Bd. 134.
(3) Foà, " Giorn. della R. Acc. di Med. di Torino „, 1898.
(4) Ribbert, Bonn, 1887.

nenti col mio studio sono le esperienze dello Slavianski (1) prima e poi quelle del Thistovitsch (2) che, iniettando cinabro e carmino nelle vene di conigli, hanno osservato negli alveoli polmonari leucociti carichi dei granuli iniettati. Il Siebel infine trovò nei capillari del polmone una grande quantità dei granuli immessi in circolo, inglobati dai leucociti; questi, passerebbero poi in parte nel connettivo interstiziale, in parte negli alveoli polmonari.

All'esame macroscopico dei polmoni di animali uccisi immediatamente o poco dopo l'iniezione solita, io rilevai che, specialmente nel lobo inferiore, la loro superficie esterna, come pure la loro superficie di sezione, presentava delle vaste chiazze, a contorno irregolare, confluenti anche fra loro, nere o rosse a seconda del materiale iniettato. Nei polmoni poi di animali sacrificati dopo un più lungo intervallo di tempo dall' iniezione, osservai che tali chiazze hanno tendenza a ridursi ed a circoscriversi e talvolta, anche prima che sia trascorso uno o due giorni, più non riscontrasene traccia. All'esame microscopico, mentrechè nelle rimanenti parti dei polmoni non vedonsi generalmente granuli, in corrispondenza di queste chiazze osserviamo invece i capillari polmonari dilatati e zaffati da granuli neri o rossi a seconda dei casi. Gran parte di questi granuli appare libera nel lume vasale; il rimanente qua e là si riscontra inglobato da leucociti. Anche negli alveoli polmonari stessi si trovano leucociti contenenti i granuli colorati. Non mi fu mai dato di rilevare rapporti speciali fra questi granuli e l'endotelio dei capillari.

Evidentemente, il materiale iniettato, spinto dal cuore destro, a cui subito arriva, nel piccolo circolo, vi si arresta in gran parte zaffandone i capillari e solo gradatamente ne viene asportato dal sangue ed immesso nel circolo generale. Tali fatti sono probabilmente da riferirsi, in parte, alla quantità piuttosto rilevante di sostanza granulare iniettata ed alla discreta rapidità della sua immissione in circolo. Si deve però anche qui ammettere che entrino in scena fenomeni di agglutinazione, simili a quelli che avvengono nel fegato, nel quale i granuli

---

(1) Slavianski, " Virchow's Arch. „, 1869.
(2) Thistovitsch, " Annales de l'Inst. de Pasteur „, 1889.

inerti, prima di venire inglobati dai leucociti e dall'endotelio capillare epatico, s'ammassano nei capillari e ne ostruiscono il lume, come precisamente pure si rileva nei capillari polmonari; poichè se tale agglutinazione non avvenisse ben non si comprenderebbe come i granuli, inferiori di diametro al lume dei capillari, vi si arrestino in notevole quantità.

Questi fatti permettono di spiegare la non immediata compars a in circolo di buona parte dei granuli iniettati, come pure il fatto, che, nonostante l'esplicarsi rapidissimo dell'attività depuratrice epatica, midollare, splenica, si possano ancora riscontrare granuli in circolo 24 ore dopo l'iniezione e più tardi ancora. E si può pure ammettere che i primi fenomeni di assunzione del materiale granulare da parte dei leucociti avvengano precisamente nel polmone.

Rene. — Più volte mi è occorso di osservare nei reni e specialmente nei glomeruli malpighiani, una quantità variabile di granuli iniettati, e veramente il Ponfick propende nell'attribuire a tale organo facoltà di trattenerli. Dai dati complessivi però delle mie ricerche mi sono potuto convincere che: se non è soverchia la quantità del materiale iniettato e se ben sono eseguite tutte le varie modalità dell'esperienza, riuscendosi così ad evitare la formazione di trombi ed emboli, non si rilevano nei reni traccie dei granuli iniettati, escludendone ben inteso la parte contenuta nel sangue, parte che va man mano scomparendo coll'aumentare del tempo intercorrente fra l'iniezione e la morte dell'animale.

Le osservazioni fatte per il rene possono pure ripetersi per altri organi (tiroide, timo, ghiandole salivari, pancreas, capsule suprarenali, stomaco, intestino, mesenterio) che furono pure soggetto di diligente ricerca da parte mia.

Nel rene dei polli, in cui avevo iniettato carmino, ebbi la ventura di fare un'osservazione che credo interessante, poichè fornisce, a parer mio, una bella dimostrazione dell'attività specifica dell'epitelio dei canalicoli contorti. Nel rene di questi animali io rilevai infatti che tale epitelio presenta dei minutissimi granuli rossi, i quali appaiono più minuti di quelli che eransi iniettati. Non tutti i canalicoli presentano un eguale contenuto granulare rosso, in alcuni anzi non rilevasene traccia; nei singoli elementi però di un medesimo canalicolo ne è all'in-

circa raccolta una medesima quantità. Dove scarseggiano, le particelle di carmino si vedono qua e là distribuite in tutto il corpo cellulare degli elementi, specialmente però in vicinanza del nucleo; dove invece sono molto abbondanti, molto più spiccatamente gremiscono quella porzione dell'epitelio compresa fra il nucleo ed il lume del canalicolo, ed allora nella sezione trasversale di questo spicca evidentissimo un anello rosso, immediatamente concentrico al lume del canalicolo stesso. Gli elementi epiteliali contenenti granuli hanno tendenza a sfaldarsi e quelli del tratto immediatamente seguente al glomerulo si possono riscontrare sfaldati nella capsula del Bowmann (Fig. 3).

A spiegazione di questi fatti, mi par logico ammettere che i granuli di carmino iniettati in circolo vi si sciolgano in parte per l'alcalinità del sangue, ed, eliminandosi per mezzo dell'epitelio dei canalicoli contorti, riprecipitino, per un processo chimico-fisiologico, nel protoplasma delle cellule epiteliali. La reazione che avviene nel tessuto renale, analoga, ma molto più delicata di quella che mi fornisce la sospensione carminosa, precipita molto più finemente il carmino, i cui granuli man mano che si formano vengono avviati verso la parte dell'elemento riguardante il lume canalicolare per essere eliminati. Con queste deduzioni le mie ricerche si connettono direttamente colle note e classiche esperienze eseguite dall'Heidenhain (1) sui cani e sui conigli col solfoindigotato di soda. Sapendo poi che il carmino, solubile in un mezzo alcalino precipita in un mezzo acido, la sua precipitazione nell' epitelio dei canalicoli contorti dei polli, costituisce pure una delicata dimostrazione della reazione acida di tale epitelio.

Nel rene dei conigli mai io riscontrai traccie del carmino iniettato nei canalicoli contorti. In questi animali il carmino, che pur viene disciolto nel sangue, viene precisamente eliminato sotto forma sciolta dall'orina, che già appare tinta in rosso poche ore dopo l'iniezione.

Le conclusioni che si possono trarre da queste mie ricerche sono in breve le seguenti:

Parte delle sostanze granulari, introdotte nelle vene, si ferma e si agglutina nei capillari polmonari, da cui viene, in seguito,

---

(1) HEIDENHAIN, " Arch. f. Mikr. Anat. „, 1873.

asportata. — Rapidamente avviene l'eliminazione dal circolo dei granuli penetrativi, e l'organo che più attivamente concorre a depurarlo è il fegato, col rivestimento endoteliale della sua estesa rete capillare. — Più gradualmente che nel fegato avviene nella milza l'assunzione di notevole quantità di granuli, da parte degli elementi della sua polpa. — Speciale attitudine rilevasi pure negli elementi endoteliali di tutta la rete venosa del midollo osseo, compresa la vena centrale, di sottrarre al circolo le particelle inerti immessevi. Coll'andare del tempo diminuisce il contenuto granulare dell'endotelio midollare, aumentando invece la quantità di granuli che, in elementi estravascolari, pur viene trattenuta nel midollo; di questi elementi, alcuni sarebbero leucociti o cellule midollari, altri, e sono i più numerosi, appaiono come elementi connettivi adulti. Nel midollo delle ossa il materiale granulare presentasi più minutamente diviso che nel fegato e nella milza. — Negativo fu il reperto di elementi speciali del rene inglobanti le sostanze granulari. Se il materiale di iniezione fu di carmino, in parte viene sciolto nel sangue; nel coniglio, tale parte la troviamo precisamente sotto forma sciolta nell'orina, senza che si riscontri traccie del suo passaggio attraverso il tessuto renale. Nel pollo invece, di cui non ho esaminato l'orina, il carmino sciolto, riprecipita sotto forma di minutissimi granuli nell'epitelio dei canalicoli contorti.

Alla memoria del Gran Maestro, Prof. Bizzozero, che consigliò e diresse queste mie ricerche, dopo avermi posto, coi suoi insegnamenti, in grado di compierle, mi è grato di attestare la mia alta riconoscenza. — Sentiti ringraziamenti porgo poi al Dott. Sacerdotti che mi fu sempre prodigo di consiglio e di aiuto.

Laboratorio di Patologia generale della R. Univ. di Torino.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Ingrandimento di circa 600 diam. (Koristka, imm. om. $^1/_{15}$, oc. 4 compens.).

Fig. 1. — Midollo osseo di coniglio 1 ora dopo l'iniezione di inchiostro di China: endotelio capillare venoso con granuli di carbone.

Fig. 2. — Midollo osseo di coniglio 20 giorni dopo l'iniezione di inchiostro di China: endotelio, elementi midollari e connettivi con granuli di carbone.

Fig. 3. — Rene di pollo 30 ore dopo l'iniezione di carmino: epitelio dei canalicoli contorti più o meno gremito di granuli rossi di carmino.

Fig. 1

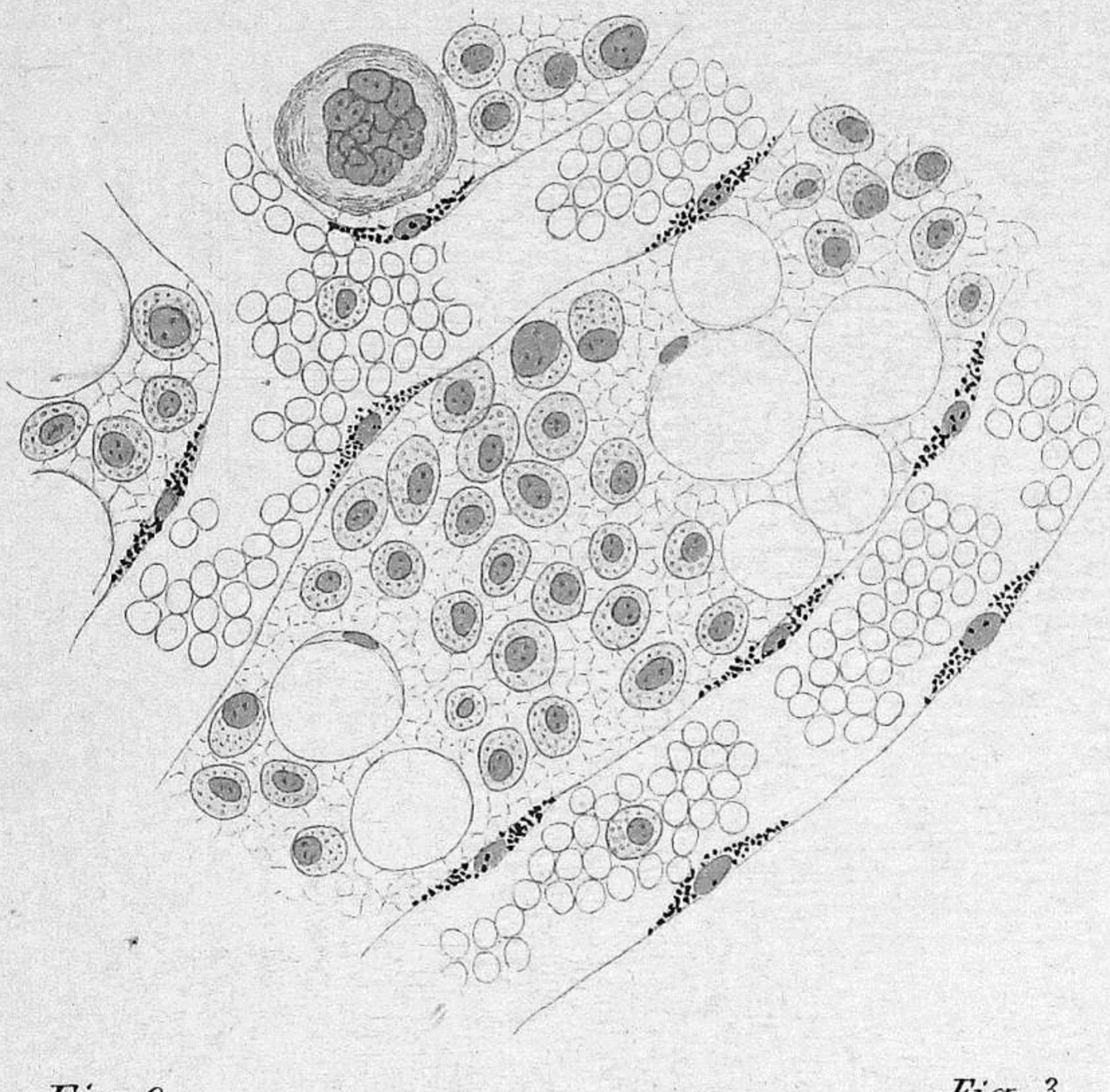


Fig. 2

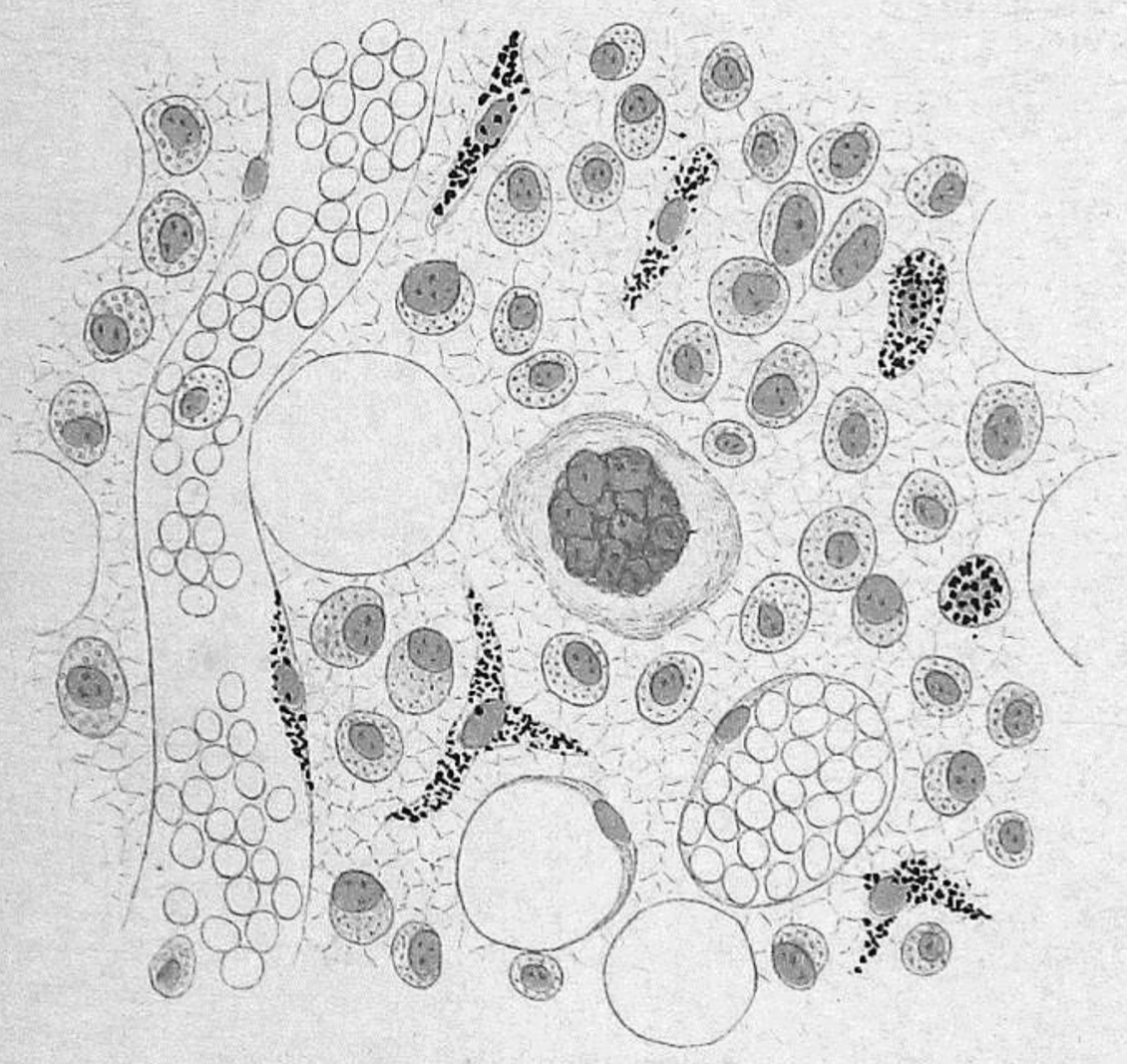
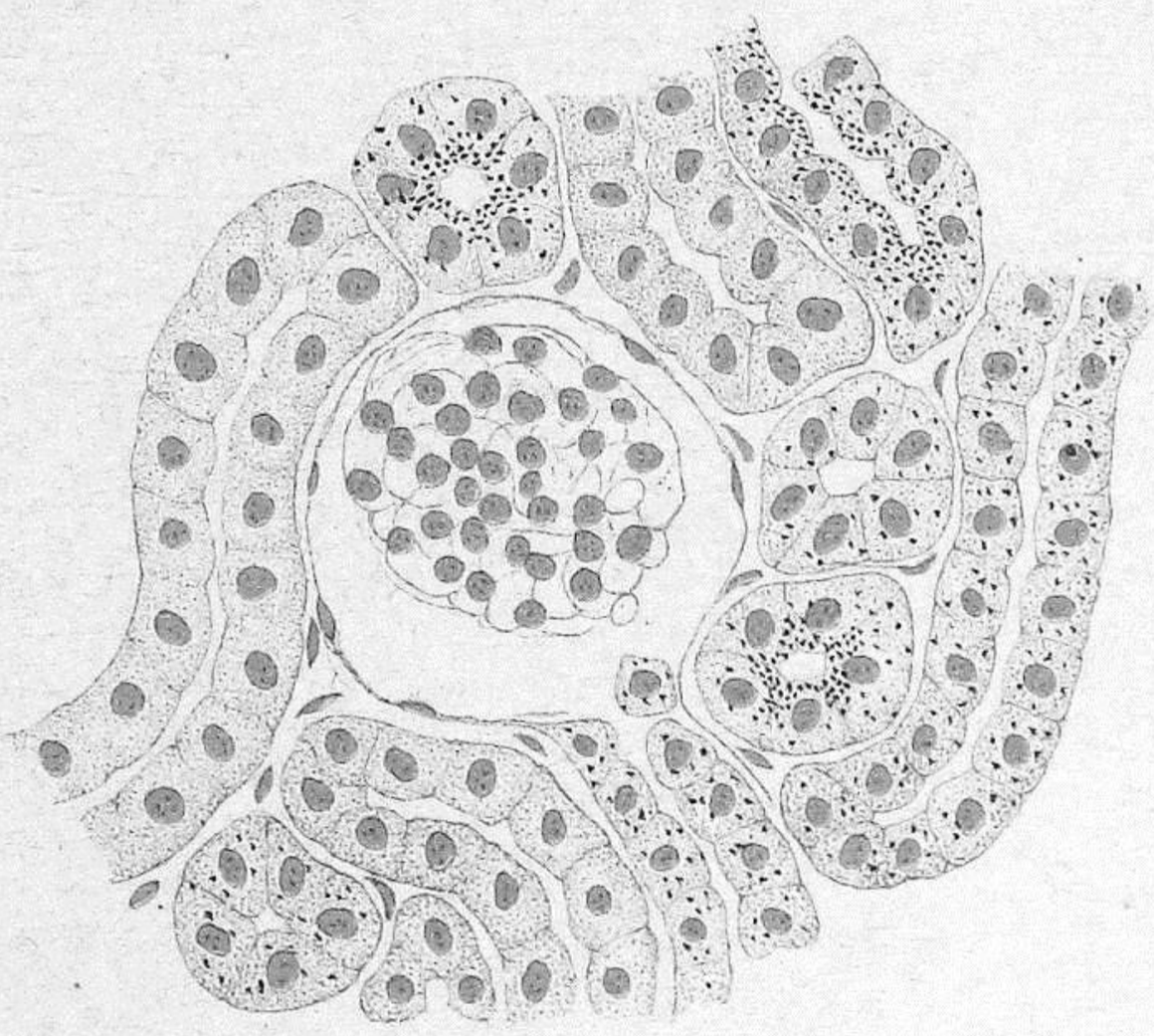


Fig. 3



Lit. Salussolia, Torino